β－クロロプロピオン酸のラット及びマウスを用いた経口投与によるがん原性予備試験(混水試験)報告書

試験番号

2 週 間　：ラット/0093；マウス/0094

１３週 間 ：ラット/0107；マウス/0108

ＣＡＳ　Ｎｏ．１０７－９４－８

平成６年１２月２８日

中 央 労 働 災 害 防 止 協 会
日本バイオアッセイ研究センター

β－クロロプロピオン酸のラット及びマウスを用いた
経口投与によるがん原性予備試験(混水試験)報告書

試験番号

2 週 間　：ラット/0093；マウス/0094
13 週 間　：ラット/0107；マウス/0108

本　　文

目　次　　頁

要約 1

Ⅰ　試験材料 3

Ⅰ－１　被験物質の性状等 3
Ⅰ－１－１　名称と別名 3
Ⅰ－１－２　構造式、分子量 3
Ⅰ－１－３　物理化学的性状等 3

Ⅰ－２　被験物質の使用ロット等 3

Ⅰ－３　被験物質の同一性・安定性 4
Ⅰ－３－１　同一性 4
Ⅰ－３－２　安定性 4

Ⅰ－４　試験動物 4

Ⅱ　試験方法 5

Ⅱ－１　投与 5
Ⅱ－１－１　投与経路、投与方法及び投与期間 5
Ⅱ－１－２　投与濃度 5
Ⅱ－１－３　被験物質の調製方法 5
Ⅱ－１－４　調製時における濃度測定 6
Ⅱ－１－５　投与条件下における被験物質の安定性 6
Ⅱ－１－６　被験物質の摂取量 6

Ⅱ－２　動物管理 7
Ⅱ－２－１　各群の使用動物数 7
Ⅱ－２－２　群分け及び個体識別方法 7
Ⅱ－２－３　飼育条件 7

Ⅱ－３　観察・検査項目及び方法 8
Ⅱ－３－１　動物の一般状態の観察 8
Ⅱ－３－２　体重測定 8
Ⅱ－３－３　摂水量測定 8
Ⅱ－３－４　摂餌量測定 8
Ⅱ－３－５　血液学的検査 8
Ⅱ－３－６　血液生化学的検査 8
Ⅱ－３－７　尿検査 9
Ⅱ－３－８　病理学的検査 9
（１）剖検 9
（２）臓器重量 9
（３）病理組織学的検査 9

Ⅱ－４　数値処理と統計学的方法 10
Ⅱ－４－１　数値の取扱いと表示 10
Ⅱ－４－２　母数の取扱い 10
Ⅱ－４－３　統計方法 11

Ⅱ－５　試資料の保管 11

Ⅲ　試験成績 12

Ⅲ－１　ラットを用いた試験 12

Ⅲ－１－１　２週間試験(試験番号:００９３) 12
１．動物の状態観察 12
（１）生死状況 12
（２）一般状態 12
（３）体重 12
（４）摂水量 13
（５）摂餌量 13
（６）被験物質摂取量 13
２．　血液学的検査・血液生化学的検査 14
（１）血液学的検査 14
（２）血液生化学的検査 14
３．病理学的検査 14
（１）剖検 14
（２）病理組織学的検査 14
Ⅲ－１－２　１３週間試験(試験番号:０１０７) 15
１．動物の状態観察 15
（１）生死状況 15
（２）一般状態 15
（３）体重 15
（４）摂水量 15
（５）摂餌量 15
（６）被験物質摂取量 16
２．　血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査 16
（１）血液学的検査 16
（２）血液生化学的検査 16
（３）尿検査 16
３．病理学的検査 17
（１）剖検 17
（２）臓器重量 17
（３）病理組織学的検査 17

Ⅲ－２　マウスを用いた試験 18

Ⅲ－１－１　２週間試験(試験番号:００９４) 18
１．動物の状態観察 18
（１）生死状況 18
（２）一般状態 18
（３）体重 18
（４）摂水量 18
（５）摂餌量 19
（６）被験物質摂取量 19
２．　血液学的検査・血液生化学的検査 19
（１）血液学的検査 19
（２）血液生化学的検査 19
３．病理学的検査 20
（１）剖検 20
（２）病理組織学的検査 20
Ⅲ－１－２　１３週間試験(試験番号:０１０８) 21
１．動物の状態観察 21
（１）生死状況 21
（２）一般状態 21
（３）体重 21
（４）摂水量 21

（５）摂餌量 21
（６）被験物質摂取量 22
２．　血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査 22
（１）血液学的検査 22
（２）血液生化学的検査 22
（３）尿検査
３．病理学的検査 23
（１）剖検 23
（２）臓器重量 23
（３）病理組織学的検査 23

Ⅳ　考察及びまとめ 24

Ⅴ　文献 28

TABLES

TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE DRINKING STUDIES OF β-CHLOROPROPIONIC ACID

TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 4 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 5 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 6 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 7 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 8 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 9 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 10 WATER CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 11 WATER CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

T A B L E S (CONTINUED)

TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 16 WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 17 WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 18 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 19 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 20 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 21 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 22 WATER CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 23 WATER CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 24 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 25 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

F I G U R E S

FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 3 WATER CONSUMPTION : RAT : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 4 WATER CONSUMPTION : RAT : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION : RAT : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION : RAT : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 7 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 8 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 9 WATER CONSUMPTION : MOUSE : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 10 WATER CONSUMPTION : MOUSE : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 11 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 12 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

PHOTOGRAPHS

PHOTOGRAPH 1 NASAL CAVITY,NORMAL:RESPIRATORY EPITHELIUM,(↑)
13-WEEK STUDY,MOUSE,FEMALE,CONTROL,ANIMAL No.0108-2003
(H&E,×300)

PHOTOGRAPH 2 NASAL CAVITY,EOSINOPHILIC CHANGE:RESPIRATORY EPITHELIUM,(↑)
13-WEEK STUDY,MOUSE,FEMALE,8000ppm,ANIMAL No.0108-2502
(H&E,×300)

APPENDIXES

APPENDIX A 1-1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 1-2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 1-3 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 1-4 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 3-1 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 3-2 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 3-3 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 3-4 WATER CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 4-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 4-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 4-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 4-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 5-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 5-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 5-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 5-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 6-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 6-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 6-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 6-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 7-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX A 7-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX A 7-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX A 7-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX A 8-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 8-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 8-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 8-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 9-1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 9-2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 9-3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 10-1 IDENTITY OF β-CHLOROPROPIONIC ACID
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 10-2 STABILITY OF β-CHLOROPROPIONIC ACID
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 10-3 CONCENTRATION OF β-CHLOROPROPIONIC ACID IN DRINKING WATER
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 10-4 STABILITY OF β-CHLOROPROPIONIC ACID IN DRINKING WATER
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 1-1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 1-2 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 1-3 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 1-4 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 3-1 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 3-2 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 3-3 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 3-4 WATER CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 4-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 4-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 4-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 4-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 5-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 5-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 5-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 5-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 6-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 6-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 6-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 6-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 7-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 7-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 7-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 7-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 8-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE

APPENDIX B 8-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE

APPENDIX B 8-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE

APPENDIX B 8-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 9-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 9-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 9-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 9-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY)
MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
RAT : MALE

APPENDIX B 10-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
RAT : FEMALE

APPENDIX B 10-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE : MALE

APPENDIX B 10-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 11-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
RAT : MALE

APPENDIX B 11-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
RAT : FEMALE

APPENDIX B 11-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
MOUSE : MALE

APPENDIX B 11-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY),RELATIVE
MOUSE : FEMALE

APPENDIX B 12-1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) RAT : MALE
SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 12-2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) RAT : FEMALE
SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 12-3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : MALE
SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 12-4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS
(THIRTEEN-WEEK STUDY : SUMMARY) MOUSE : FEMALE
SACRIFICED ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 13-1 IDENTITY OF β-CHLOROPROPIONIC ACID (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 13-2 STABILITY OF β-CHLOROPROPIONIC ACID (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 13-3 CONCENTRATION OF β-CHLOROPROPIONIC ACID IN DRINKING WATER (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 13-4 STABILITY OF β-CHLOROPROPIONIC ACID IN DRINKING WATER (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS

APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要約

β－クロロプロピオン酸のがん原性を検索する目的で F344/DuCrj (Fischer)ラットとCrj:BDF$_1$マウスを用いて経口投与による2年間(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与濃度を検索するために予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。投与は、β－クロロプロピオン酸を各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。2週間試験及び13週間試験のラット、マウスとも被験物質投与群を5群、対照群を1群の6群構成で行った。投与濃度は、2週間試験のラット、マウスの雌雄とも 16000ppm、8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppmとし、13週間試験のラットは雌雄とも 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm、マウスは雌雄とも 16000ppm、8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppmとした。観察、検査項目は、一般状態の観察、体重・摂水量・摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査(13週間試験)、剖検、臓器重量測定(13週間試験)及び病理組織学的検査を行った。

ラットを用いた2週間試験の結果、高用量群において飲水忌避に伴う体重増加の抑制が認められ、最終計測時の体重は、16000ppm群で対照群に対して、雄：82%、雌：90%、8000ppm群では、雄：92%、雌：96%であった。一方、4000ppm以下の群では、特に顕著な変化はみられなかった。これらの結果から、13週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 8000ppmとし、以下 4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm(公比2.0)に設定した。

ラットを用いた13週間試験の結果、最高用量の 8000ppm群では雌雄とも顕著な摂水量の低値、体重増加の抑制(最終計測時の体重は対照群に対して、雄：87%、雌：90%)、摂餌量の低値がみられ、血液生化学的検査と尿検査に軽度な栄養障害を示唆する変化もみられた。一方 4000ppm以下の群では、4000ppm群及び 2000ppm群で摂水量の低値が認められたのみで、顕著な変化はみられなかった。これらの結果から、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 8000ppmと 4000ppmの間の 7200ppmとし、以下 2400ppm、800ppm (公比3.0)に設定した。

マウスを用いた2週間試験の結果、最高用量の 16000ppm群で雌雄とも飲水の忌避による顕著な摂水量の低値がみられたが、体重増加の抑制(対照群に対して、雄：92%、雌：93%)は軽度であり、且つ、その他の検査で顕著な変化はみられなかった。これらの結果から、13週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 16000ppmとし、以下 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm(公比2.0)に設定した。

マウスを用いた13週間試験の結果、各種検査に性差が認められた。即ち、雄では、摂水量の低値に伴って、8000ppm以上の群で摂餌量及び顕著な体重増加の抑制(対照群に対して、16000ppm群：74%、8000ppm群：82%)がみられた。また、血液生化学的検査及び尿検査に栄養障害を示唆する変化が認められた。一方、4000ppm以下の群では、4000ppm群で摂水量の低値(対照群に対して、69～88%)と体重増加の抑制(対照群に対して 88%)がみられたが、動物の生存に影響を与えるような障害はみられなかった。

雌では、高用量の16000ppm群で摂水量の低値(対照群に対して、45～81%)が認められたが、体重増加の抑制は対照群に対して94%とその程度は少なく、動物の生存に影響を及ぼす様な顕著な変化はみられなかった。8000ppm以下の群では顕著な変化はみられなかった。

これらの結果から、がん原性試験の投与濃度は、雄では最高用量を4000ppmとし、以下 1000ppm、250ppm(公比4.0)、雌では最高用量を 16000ppmとし、以下4000ppm、1000ppm (公比4.0)に設定した。

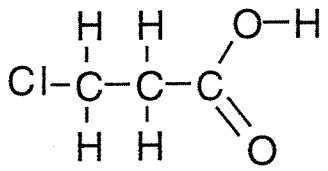
Ⅰ　試験材料

Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称と別名

名称：β-Chloropropionic Acid
別名：3-Chloropropionic Acid
CAS.No.：107-94-8

Ⅰ－1－2　構造式、分子量



$C_3H_5ClO_2$
分子量：108.53

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等

性　　状：白色の小葉片状結晶
沸　　点：200℃(765mmHg)、127℃(35mmHg)、124℃(25mmHg)、108℃(12mmHg)
融　　点：41℃
溶 解 性：水、アルコール、クロロホルムに任意に溶ける。エーテルにわずかに溶ける。
保存条件：火気のない場所に直射日光を避けて密閉容器で保存

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：2週間試験 FBO 01
13週間試験 FBO 01
製　造　元：東京化成工業株式会社
グ レ ー ド：特級
純　　度：99%以上

Ⅰ－３　被験物質の同一性・安定性

Ⅰ－３－１　同一性

2週間試験及び13週間試験とも試験に使用した被験物質の同一性の確認はマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、理論値及び文献値と比較することにより行った。その結果、マススペクトルでは理論値と同じ分子量が確認され、赤外吸収スペクトルでは文献（文献　1）と同じ波数にピークが認められ、β－クロロプロピオン酸であることを確認した。

なお、それらの結果について、2週間試験は APPENDIX A 10-1、13週間試験は APPENDIX　B 13-1に示した。

Ⅰ－３－２　安定性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質として使用したβ－クロロプロピオン酸について、投与開始前及びその投与終了後に、赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較した。

その結果、測定結果に差はみられず、投与期間中のβ－クロロプロピオン酸は安定であった。

なお、それらの結果について、2週間試験は APPENDIX A 10-2、13週間試験はAPPENDIX B 13-2に示した。

Ⅰ－４　試験動物

動物は2週間試験、13週間試験ともに日本チャールス・リバー(株)より購入した F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及び Crj:BDF_1マウス(SPF)の雌雄を使用した。

2週間試験では、ラット、マウスとも雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:117～131g、雌:99～112g/マウス雄:21.1～24.7g、雌:17.2～20.2g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラット、マウスとも雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:118～137g、雌:102～116g/マウス雄:22.2～25.0g、雌:17.4～20.2g)を選別し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF_1マウスを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせた。

Ⅱ　試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE1 に示した。

Ⅱ－1　投与

Ⅱ－1－1　投与経路、投与方法及び投与期間

2週間試験、13週間試験とも経口投与とした。すなわち、褐色遮光のガラス製給水瓶を用い、被験物質を混合した飲料水の自由摂取により、2週間試験では14日間連続、13週間試験では92～93日間解剖直前まで連続投与した。

Ⅱ－1－2　投与濃度

2週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高投与濃度を16000ppmに設定し、それ以下、8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm(公比2.0)とした。なお、対照群として飲料水のみの群を設けた。

13週間試験

ラットは雌雄ともに最高投与濃度を8000ppmに設定し、それ以下、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm(公比2.0)とした。なお、対照群として飲料水のみの群を設けた。

マウスは雌雄ともに最高投与濃度を16000ppmに設定し、それ以下、8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm(公比2.0)とした。なお、対照群として飲料水のみの群を設けた。

Ⅱ－1－3　被験物質の調製方法

2週間、13週間の各試験とも、市水を脱イオンし、紫外線滅菌し、フィルターろ過した飲料水に被験物質を溶解して各設定濃度になるように希釈調製した。なお、各試験における濃度の表示は、ppm（重量対重量比)とした。また、調製頻度は給水交換に合わせて 2週間、13週間試験とも毎週2回とした。

Ⅱ－１－４　調製時における濃度測定

各投与濃度に調製された被験物質の濃度は、2週間試験、13週間試験とも高速液体クロマトグラフを用いて分析し、それらの結果を2週間試験はAPPENDIX A 10-3、13週間試験は APPENDIX B 13-3に示した。

各群の調製濃度は設定濃度に対し、2週間のラットの試験では 98.2～103.1%、マウスの試験では 101.7～106.7%、13週間のラットの試験では93.4～112.5%、マウスの試験では 93.4～112.5% の範囲にあった。

Ⅱ－１－５　調製被験物質の安定性

2週間試験、13週間試験とも各投与濃度に調製された被験物質の投与期間中（3～4日）の安定性は、投与前後の調製被験物質の濃度を高速液体クロマトグラフを用いて分析し、その結果を比較することにより確認した。

それらの結果について、2週間試験はAPPENDIX A 10-4、13週間試験はAPPENDIX B 13-4に示した。

Ⅱ－１－６　被験物質の摂取量

摂水量より被験物質の体重当たりの摂取量（mg/kg/day）を算出した。

Ⅱ－２　動物管理

Ⅱ－２－１　各群の使用動物数

2週間試験及び13週間試験のラット、マウスとも投与群5群及び対照群1群の計6群を設け、雌雄各群10匹の動物を用いた。

Ⅱ－２－２　群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、動物を体重の重い順より各群に1匹づつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより群間の体重の偏りを小さくする群分け方法(適正層別方式)により実施した(文献 2)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、ラットとマウスは、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

Ⅱ－２－３　飼育条件

動物は、各試験ともに、全飼育期間を通して、温度24±2℃、湿度55±10%、明暗サイクル:12時間点灯(8:00～20:00)/12時間消灯(20:00～8:00)、換気回数15～17回/時の環境下で飼育した。

動物は単飼ケージ（ステンレス製二連網ケージ、ラット:170W×294D×176H mm、マウス:112W×212D×120H mm）に収容し、ケージ交換は2週間毎に実施した。

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)のCRF-1固型飼料(3Mrad-γ線照射滅菌飼料)を使用し、全飼育期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は、市水(秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線滅菌し、検疫期間については自動給水装置で、馴化期間及び投与期間は褐色遮光のガラス製給水瓶によって自由摂取させた。なお、給水瓶交換は週2回行った。

Ⅱ－３　観察・検査項目及び方法

Ⅱ－３－１　動物の一般状態の観察

各試験とも、毎日1回、動物の一般状態の観察を行った。

Ⅱ－３－２　体重測定

2週間試験では、0日目(投与開始直前)、1日目(1週1日)、2日目(1週2日)、4日目(1週4日)、7日目(1週7日)、11日目(2週4日)及び14日目(2週7日)に、13週間試験では週1回体重を測定した。

Ⅱ－３－３　摂水量測定

2週間試験では、4日目(1週4日)、7日目(1週7日)、11日目(2週4日)及び14日目(2週7日)に、13週間試験では週2回摂水量を個体別に測定した。

Ⅱ－３－４　摂餌量測定

2週間試験及び13週間試験とも週1回摂餌量を個体別に測定した。

Ⅱ－３－５　血液学的検査

2週間試験、13週間試験とも定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりEDTA-2K入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。なお、13週間試験においては、検査対象動物は解剖日前日より(18時間以上)絶食させた。

なお、検査項目は TABLE1、 検査方法は APPENDIX C 1に示した。

Ⅱ－３－６　血液生化学的検査

2週間試験、13週間試験とも定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離して得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。なお、13週間試験においては、検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。

なお、検査項目は TABLE1、検査方法は APPENDIX C 1に示した。

Ⅱ－３－７　尿検査

13週間試験の投与最終週に新鮮尿を採取し、尿検査を行った。検査項目は TABLE1、検査方法は APPENDIX C 1に示した。

Ⅱ－３－８　病理学的検査

（１）剖検

各試験とも全動物について肉眼的に観察を行った。

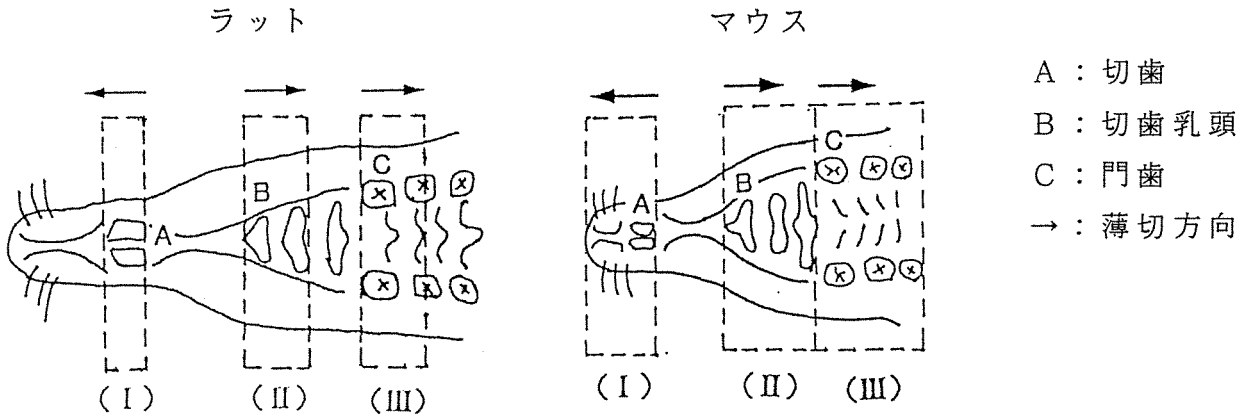
（２）臓器重量

13週間試験の定期解剖時に全動物についてTABLE1 に示した臓器の湿重量を測定した。また、湿重量の体重比、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

（３）病理組織学的検査

2週間試験では雌雄各群の 2～4例の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE1 に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお、鼻腔については切歯の後端（レベルⅠ）、切歯乳頭（レベルⅡ）、第一臼歯の前端（レベルⅢ）の3ヶ所で切り出し（横断）、検査した。

＜切り出し位置＞



Ⅱ－４　数値処理と統計学的方法

Ⅱ－４－１　数値の取り扱いと表示

体重についてはｇを単位とし、ラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂餌量についてはｇを単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第1位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1日当りの平均摂餌量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂水量についてはｇを単位とし、計測期間を通しての摂水量を小数点以下第1位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1日当りの平均摂水量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

β－クロロプロピオン酸の体重当たりの摂取量は摂水量にβ－クロロプロピオン酸の設定濃度を乗じ体重で除した値をmg/kg(body weight)/dayを単位として小数点以下第4位を四捨五入して小数点以下第3位まで表示した。

臓器実重量についてはｇを単位とし、小数点以下第3位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第4位を四捨五入し、小数点以下第3位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査についてはAPPENDIX C 2に示した精度により表示した。13週間試験で算出したＡ/Ｇ比はアルブミン/(総蛋白－アルブミン)による計算で求め、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

なお、各数値データにおいての平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

Ⅱ－４－２　母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数より除いた。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

13週間試験の尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査データは、各群の有効動物数（供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数）を母数とした。

Ⅱ－４－３　統計方法

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、まずBartlett法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合はDunnettの多重比較により平均値の検定を行った。

また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合にはDunnett(型)の多重比較を行った。

予備検定については5%の有意水準で両側検定を行い、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。

なお、病理組織学的検査のうち13週試験は非腫瘍性病変について、所見のみられなかった動物をグレード0としてχ^2検定を行った。また、尿検査についてもχ^2検定を行った。χ^2検定は対照群と各投与群との検定である。

各群雌雄毎に検査数が２以下の項目については検定より除外した。

Ⅱ－５　試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書にしたがって、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後10年間とする。

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－１　ラットを用いた試験

Ⅲ－１－１　２週間試験(試験番号:００９３)

１．動物の状態観察

（１）生死状況

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-1､2に示した。

雌の 16000ppm群で1週1日より尿による外陰部周囲の汚染がみられ、投与終了時には約半数の動物に認められた。なお、16000ppm群の雌雄に各2例、8000ppm群の雌雄に各1例及び4000ppm群の雌に3例上顎門歯の欠損がみられたが、被験物質投与との関連性は明かではなかった。

それ以外には雌雄ともに被験物質投与の影響と思われる所見はみられなかった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 2、3、APPENDIX A 2-1､2に示した。

雌雄とも8000ppm以上の投与群に投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められ、16000ppm群の投与期間中の体重値は対照群に対して、雄では82～91%、雌では89～93%、8000ppm群雄で92～96%、雌で95～96%であった。

4000ppm以下の群では、対照群と比較して体重推移に顕著な差は認められなかった。

なお、最終計測日（2週7日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 16000ppm群:82%、8000ppm群:92%、4000ppm群:95%、2000ppm群:97%、1000ppm群：99%、雌では 16000ppm群:90%、8000ppm群:96%、4000ppm群:97%、2000ppm群:99%、1000ppm群：101%であった。

（４）摂水量

摂水量を TABLE 4、5、APPENDIX A 3-1、2に示した。

雌雄の全投与群で、投与濃度に対応した摂水量の低値が認められ、投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して雄では 16000ppm群:50～67%、8000ppm群:70～78%、4000ppm群:77～79%、2000ppm群:80～85%、1000ppm群:91～93%、雌では 16000ppm群:48～63%、8000ppm群:64～68%、4000ppm群:73～74%、2000ppm群:73～75%、1000ppm群：88～97%であった。

（５）摂餌量

摂餌量を TABLE 6、7、APPENDIX A 4-1、2に示した。

雌雄とも2000ppm以上の投与群で、投与濃度に対応した摂餌量の低値が認められ、投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して雄では 16000ppm群:70～72%、8000ppm群:85～88%、4000ppm群:89～91%、2000ppm群:93～97%、1000ppm群:97～99%、雌では 16000ppm群:74～82%、8000ppm群:85～90%、4000ppm群:91～93%、2000ppm群:93%、1000ppm群:98～99%であった。

（６）被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX A 5-1、2に示した。

被験物質摂取量は雄で 16000ppm群:1290～1485mg/kg、8000ppm群:701～752mg/kg、4000ppm群:341～378mg/kg、2000ppm群:181～197mg/kg、1000ppm群：96～108mg/kg、雌では 16000ppm群:1394～1598mg/kg、8000ppm群:728～821mg/kg、4000ppm群:393～437mg/kg、2000ppm群:195～219mg/kg、1000ppm群：125～131mg/kgであった。

2．血液学的検査・血液生化学的検査

（1）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 6-1、2に示した。

雄では、2000ppm以上の群で血小板数の有意な減少、16000ppm群でＭＣＶの有意な減少が認められた。

雌では、4000ppm以上の群で血小板数の有意な減少、16000ppm群でＭＣＶ及び白血球数の有意な減少が認められた。

その他、雄の8000ppm群で好酸球比の増加がみられたが、投与量に対応した変化ではなかった。

（2）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 7-1、2に示した。

雄では、4000ppm以上の群で総蛋白、アルブミン及びナトリウムの有意な減少、ＧＯＴ活性の有意な低下、4000ppm以上の群及び1000ppm群でＧＰＴ活性の有意な低下、16000ppm、4000ppm群でカリウムの有意な増加、8000ppm以上の群で総コレステロールの有意な減少、16000ppm群でカルシウムの有意な減少がそれぞれ認められた。

雌では、4000ppm以上の群で総コレステロールの有意な減少、8000ppm以上の群で総蛋白、ナトリウムの有意な減少、16000ppm群でアルブミン及びカルシウムの有意な減少、尿素窒素の有意な増加がそれぞれ認められた。

3．病理学的検査

（1）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX A 8-1,2に示した。

16000ppm群の雌雄に各2例、8000ppm群の雌雄に各1例及び4000ppm群の雌に3例上顎門歯の欠損がみらた。その他に投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見は認められなかった。

（2）病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹の病理組織学的所見を APPENDIX A 9-1に(所見の見られた雌についてのみ)示した。

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見は認められなかった。

Ⅲ－１－２　１３週間試験(試験番号:０１０７)

１．動物の状態観察

（１）生死状況

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-1、2に示した。

雌雄ともに全ての群で投与の影響と思われる所見は観察されなかった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 8、9、FIGURE 1、2、APPENDIX B 2-1、2に示した。

雌雄の 8000ppm群において投与期間を通し、対照群と比較して体重増加の抑制が認められ、投与期間中の体重値は対照群に対して雄では 87～93%、雌では 90～96%であった。その他の投与群の体重推移は雌雄とも対照群との間に差はみられなかった。

最終計測日(13週7日)における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 8000ppm群:87%、4000ppm群:96%、2000ppm群:100%、1000ppm群:101%、500ppm群:99%、雌では 8000ppm群:90%、4000ppm群:97%、2000ppm群:100%、1000ppm群:101%、500ppm群:102%であった。

（４）摂水量

摂水量を TABLE 10、11、FIGURE 3、4、APPENDIX B 3-1、2に示した。

雄の 2000ppm以上の投与群、雌の2000ppm以上の投与群の摂水量は、ほぼ全投与期間、対照群と比較して投与濃度に対応して低値を示した。

投与期間中の投与群の摂水量は、対照群と比較して、雄では 8000ppm群:66～84%、4000ppm群:75～86%、2000ppm群:76～87%、1000ppm群:86～99%、500ppm群：93～108%、雌では 8000ppm群:47～86%、4000ppm群:54～82%、2000ppm群:58～93%、1000ppm群:75～122%、500ppm群：87～166%であった。

（５）摂餌量

摂餌量を TABLE 12、13、FIGURE 5、6、APPENDIX B 4-1、2に示した。

雄の 8000ppm群及び雌の 4000ppm以上の群においてほぼ全投与期間に、対照群と比較して摂餌量の低値が認められた。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では 8000ppm群:85～90%、4000ppm群:90～97%、2000ppm群:92～99%、1000ppm群:98～102%、500

ppm群：96～101%、雌では 8000ppm群:83～89%、4000ppm群:89～95%、2000ppm群:96～100%、1000ppm群:96～102%、500ppm群：99～106%であった。

（６）被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX B 5-1、2に示した。

被験物質摂取量は雄で 8000ppm群:405～866mg/kg、4000ppm群:215～402mg/kg、2000ppm群:105～204mg/kg、1000ppm群:58～109mg/kg、500ppm群：31～61mg/kg、雌では 8000ppm群:464～835mg/kg、4000ppm群:268～447mg/kg、2000ppm群:143～249mg/kg、1000ppm群:87～133mg/kg、500ppm群：56～74mg/kgであった。

２．血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

（１）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 6-1、2に示した。

雌雄ともに、有意な変化は認められなかった。

（２）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 7-1、2に示した。

雄では、4000ppm以上の群で総蛋白の有意な減少、8000ppm群でアルブミン、総コレステロール、リン脂質、カルシウム及びナトリウムの有意な減少、ＧＰＴ活性の有意な低下、Ａ／Ｇ比の有意な増加がそれぞれ認められた。

雌では、4000ppm以上の群で総蛋白及び総コレステロールの有意な減少、8000ppm群でアルブミン、リン脂質及びナトリウムの有意な減少、ＧＯＴ活性の有意な低下、Ａ／Ｇ比の有意な増加がそれぞれ認められた。

（３）尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果を APPENDIX B 8-1、2に示した。

雄では、変化は認められなかった。

雌では、2000ppm以上の群で蛋白の陽性度の有意な増加、8000ppm群でｐＨ値の有意な低下、ケトン体の陽性例の有意な増加が認められた。

3．病理学的検査

（1）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 9-1、2に示した。

雌雄とも、投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

（2）臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX B 10-1、2（実重量）、B 11-1、2（体重比）に示した。

雄では、解剖時体重の低値とともに 8000ppm群の胸腺、副腎、心臓、肺、脾臓、肝臓、脳に実重量の低値がみられたが、肺、肝臓、脳についての体重比は逆に高値を示した。その他、精巣、腎臓の体重比の高値がみられた。以上の変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。なお、2000ppm群の肝臓は、実重量、体重比ともに高値を示した。

雌では、解剖時体重の低値とともに 8000ppm群の副腎、肺、肝臓、脳に実重量の低値、腎臓の体重比の高値がみられた。また、4000ppm群の脳は実重量の低値を示した。以上の変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。

（3）病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 12-1、2に示した。

雌雄とも、投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

Ⅲ－２　マウスを用いた試験

Ⅲ－２－１　２週間試験(試験番号:００９４)

１．動物の状態観察

（１）生死状況

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-3、4に示した。

雄の16000、8000、4000及び2000ppm群ならびに雌の16000ppm群で立毛が1～4例認められた他は、投与の影響と思われる所見は認められなかった。

（３）体重

体重の推移をTABLE 14、15、APPENDIX A 2-3、4に示した。

雌雄ともに16000ppm群で投与開始後2日目まで体重の低下がみられた。その後増加傾向を示したが、その値は常に対照群を下回った。その他の群では、対照群とほとんど変わらない体重増加の推移を示した。

最終計測日(2週7日)における各投与群の体重は対照群と比較して、雄では16000ppm群:92%、8000ppm群:96%、4000ppm群:97%、2000ppm群:100%、1000ppm群:100%、雌では16000ppm群:93%、8000ppm群:95%、4000ppm群:98%、2000ppm群:97%、1000ppm群:100%であった。

（４）摂水量

摂水量を TABLE 16、17、APPENDIX A 3-3、4に示した。

雌雄の4000ppm以上の投与群で、投与濃度に対応した摂水量の低値が認められた。

投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して、雄では、16000ppm群:48～56%、8000ppm群:59～70%、4000ppm群：66～89%、2000ppm群：93～105%、1000ppm群：102～105%、雌では、16000ppm群:45～51%、8000ppm群:53～67%、4000ppm群：73～84%、2000ppm群：78～89%、1000ppm群：86～100%であった。

（５）摂餌量

摂餌量を TABLE 18、19、APPENDIX A 4-3、4に示した。

雄の16000ppm群の1週7日に対照群と比較して摂餌量の低値（86%）が認められた。その他の群では対照群と比較して顕著な差は認められなかった。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では、16000ppm群：86～106%、8000ppm群：103～111%、4000ppm群：103～108%、2000ppm群：108～111%、1000ppm群：103～108%、雌では、16000ppm群：94～103%、8000ppm群：100%、4000ppm群：106～109%、2000ppm群：97%、1000ppm群：97～100%であった。

（６）被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を APPENDIX A 5-3、4に示した。

被験物質摂取量は、雄で 16000ppm群：1589～1708mg/kg、8000ppm群：829～901mg/kg、4000ppm群：458～561mg/kg、2000ppm群：307～362mg/kg、1000ppm群：174～180mg/kg、雌では、16000ppm群：1934～1957mg/kg、8000ppm群：1126～1255mg/kg、4000ppm群：744～771mg/kg、2000ppm群：409～415mg/kg、1000ppm群：222～227mg/kgであった。

２．血液学的検査・血液生化学的検査

（１）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 6-3、4に示した。

雌雄ともに、変化は認められなかった。

（２）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 7-3、4に示した。

雄では、8000ppm以上の群で総コレステロールの有意な減少、16000ppm群でカルシウムの有意な減少が認められた。

雌では、変化は認められなかった。

その他、雄の8000ppm群で無機リンの減少がみられたが、投与量に対応した変化ではなかった。

3．病理学的検査

（1）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX A 8-3、4 に示した。

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

（2）病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹の病理組織学的所見を APPENDIX A 9-2、3に示した。

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

Ⅲ－２－２　１３週間試験(試験番号:０１０８)

１．動物の状態観察

（１）生死状況

動物の死亡は雌雄ともに全ての群でみられなかった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-3、4に示した。

雌雄とも全ての群に投与の影響と思われる所見は認められなかった。

（３）体重

体重の推移をTABLE 20、21、FIGURE 7、8、APPENDIX B 2-3、4に示した。

雄の 2000ppm以上の投与群は全投与期間を通して投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。雌では最高投与群の 16000ppm群で全投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。雌の 8000ppm以下の群の体重の推移は、対照群との間に顕著な差は認められなかった。

最終計測日(13週7日)における各投与群の体重は対照群と比較して、雄では 16000ppm群:74%、8000ppm群:82%、4000ppm群:88%、2000ppm群:92%、1000ppm群:96%、雌では16000ppm群:94%、8000ppm群:98%、4000ppm群:96%、2000ppm群:98%、1000ppm群:98%であった。

（４）摂水量

摂水量を TABLE 22、23、FIGURE 9、10、APPENDIX B 3-3、4に示した。

雄の 2000ppm以上の投与群、雌の 8000ppm以上の投与群で、全投与期間を通して投与濃度に対応した摂水量の低値が認められた。

投与期間中の投与群の摂水量は対照群に対して、雄では 16000ppm群:42～49%、8000ppm群:55～70%、4000ppm群:69～88%、2000ppm群:69～100%、1000ppm群:94～104%、雌では16000ppm群:45～81%、8000ppm群:61～81%、4000ppm群:80～107%、2000ppm群:83～113%、1000ppm群:89～123%であった。

（５）摂餌量

摂餌量を TABLE 24、25、FIGURE 11、12、APPENDIX B 4-3、4に示した。

雌雄の 16000ppm群で全投与期間を通して、雄の 8000ppm群で6週7日以降に対照群と比較して摂餌量の低値が認められた。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群に対して、雄では 16000ppm群:78～92%、8000ppm群:88～103%、4000ppm群:93～100%、2000ppm群:93～100%、

1000ppm群:97～103%、雌では16000ppm群：83～90%、8000ppm群:93～100%、4000ppm群:92～103%、2000ppm群:93～103%、1000ppm群:93～103%であった。

（６）被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出された被験物質摂取量を APPENDIX B 5-3、4に示した。

被験物質摂取量は、雄で 16000ppm群:1002～1525mg/kg、8000ppm群:632～937mg/kg、4000ppm群:332～577mg/kg、2000ppm群:188～366mg/kg、1000ppm群:105～191mg/kg、雌では、16000ppm群:1910～2741mg/kg、8000ppm群:1123～1354mg/kg、4000ppm群:683～834mg/kg、2000ppm群:352～469mg/kg、1000ppm群:173～257mg/kgであった。

２．血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

（１）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 6-3、4に示した。

雌雄ともに、特に有意な変化は認められなかった。

（２）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 7-3、4に示した。

雄では、2000ppm以上の群でトリグリセライドの有意な減少、8000ppm群を除く 2000ppm以上の群でカリウムの有意な減少、4000ppm以上の群で総コレステロール及び尿素窒素の有意な減少、16000ppm、4000ppm群でカルシウムの有意な減少、8000ppm以上の群で総蛋白及びアルブミンの有意な減少、16000ppm群でＡ／Ｇ比の有意な増加がそれぞれ認められた。

雌では、16000ppm群で総蛋白及び総コレステロールの有意な減少が認められた。

（３）尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果をAPPENDIX B 8-3、4に示した。

雄では、2000ppm以上の群でｐＨ値の有意な低下、8000ppm以上の群で蛋白の陽性度の有意な増加が認められた。

雌では、8000ppm以上の群でケトン体の程度の有意な増加、16000ppm群でｐＨ値の有意な低下が認められた。

その他、雌の8000ppm群で蛋白の陽性度の増加がみられたが、投与量に対応した変化ではなかった。

3．病理学的検査

（1）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 9-3、4 に示した。

雌雄とも、投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

（2）臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX B 10-3、4（実重量）、B 11-3、4（体重比）に示した。

雄では、解剖時体重の低値に伴って 8000ppm以上の群に胸腺、心臓、肝臓の実重量の低値が、16000ppm群に肺、脾臓の実重量の低値が、2000ppm以上の群で脳の体重比の高値が、4000ppm以上の群で肺、肝臓、腎臓の体重比の高値が、8000ppm以上の群で副腎、精巣の体重比の高値が、16000ppm群で心臓の体重比の高値が、8000ppm群で脾臓の体重比の高値が認められた。

雌では、解剖時体重の低値に伴って8000ppm以上の群で投与濃度に対応して腎臓の実重量及び体重比の高値が認められた。その他、16000ppm群で肺、脳の実重量の低値が、8000ppm以上の群で腎臓、肝臓の体重比の高値が認められた。

（3）病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 12-3、4 に示した。

雄では、投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

雌では、投与濃度に対応して 4000ppm以上の群に鼻腔の呼吸上皮にエオジン好性変化の発生増加がみられた。

Ⅳ　考察及びまとめ

β－クロロプロピオン酸の混水投与によるがん原性試験の投与濃度を設定するために、F344/DuCrj(Fischer)ラット、Crj:BDF$_1$マウスを用いて2週間投与試験(投与濃度 ラット:0,1000,2000,4000,8000,16000ppm,マウス:0,1000,2000,4000,8000,16000ppm)及び13週間投与試験(投与濃度 ラット:0,500,1000,2000,4000,8000ppm,マウス:0,1000,2000,4000,8000,16000ppm)を実施した。

ラット

＜2週間試験＞

ラットの2週間試験の結果、雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、病理組織学的にも投与群に特徴的な変化はみられなかった。

最高用量の 16000ppm群では、雌雄の動物に忌避によると思われる大幅な摂水量の低値(対照群に対して 雄:50～67%、雌:48～63%)が認められ、それに起因すると思われる所見として、尿による外陰部周囲の汚染が雌の約半数に、摂餌量の低値が雌雄に(対照群に対して 雄:70～72%、雌:74～82%)及び体重増加の抑制が雌雄に(最終計測日において対照群に対して 雄:82%、雌:90%)みられた。また、雌雄ともごく軽度の低栄養状態を示唆する所見が血液生化学的検査のいくつかの項目に認められ、また、血液学的検査の結果、雌雄ともＭＣＶの減少、軽度の血小板数の減少も認められた。しかし、これらの所見はいずれも、重篤な毒性症状とは考えられなかった。

8000ppm群では、大幅な摂水量の低値が雌雄に(対照群に対して 雄:70～78%、雌:64～68%)、摂餌量の低値が雌雄に(対照群に対して 雄:85～88%、雌:85～90%)及び体重増加の抑制が雌雄に(試験終了時対照群に対して 雄:92%、雌:96%)みられた。また、雌雄ともごく軽度の低栄養状態を示唆する所見が血液生化学的検査のいくつかの項目に認められた。その他、血液学的検査の結果、雌雄ともに血小板数の減少が認められた

4000ppm以下の群では、16000ppm、8000ppm群に認められた所見は徐々に減少または軽減する傾向を示した。摂水量の低値は雌雄とも最低用量の1000ppmまで、摂餌量の低値は雌雄とも2000ppmまで認められた。また、低栄養状態を示唆する血液生化学的検査の所見は、雌雄ともに4000ppmまで認められた。血小板数の減少は、雄では2000ppm、雌では4000ppmまで認められた。その他の検査項目では著変は認められなかった。

以上の様に、β－クロロプロピオン酸の2週間投与により、重篤な毒性症状はみられなかったが、16000ppm群で飲水の忌避によると思われる摂水量

の低値、顕著な摂餌量の低値、体重増加の抑制が認められ、軽度であるものの栄養障害も疑われることから 16000ppm以上の濃度を13週間連続投与することは困難であると思われた。また、8000ppmでは、摂水量及び摂餌量の低値がみられたものの体重の増加抑制率は対照群に対して10%以内であったことから、8000ppmは13週間試験における最大耐量であると考えた。従って、13週試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 8000ppmとし、以下4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm(公比2.0)と設定した。

＜13週間試験＞

13週間試験の結果、雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、動物の一般状態、血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査には投与群に特徴的な変化はみられなかった。

高用量の 8000ppm群では、雌雄ともに動物の忌避によると思われる大幅な摂水量の低値(対照群に対して 雄:67～84%、雌:47～86%)が認められ、それに起因すると思われる摂餌量の低値が雌雄に(対照群に対して 雄:85～90%、雌:83～89%)、体重増加の抑制が雌雄に(試験終了時対照群に対して雄:87%、雌:90%)みられた。血液生化学的検査及び尿検査でごく軽度ではあるが低栄養状態を示唆する所見が雌雄に観察された。また、雌雄とも解剖時体重の低値に伴って種々の臓器に重量の変化が認められた。

4000ppm群では、僅かな体重増加の抑制が雌雄に(対照群に対して試験終了時 雄:96%、雌:97%)、摂水量の低値が雌雄に(対照群に対して 雄:75～86%、雌:54～82%)、摂餌量の低値が雌に(対照群に対して 89～95%)認められた。8000ppm群で認められた血液生化学的検査及び尿検査の低栄養状態を示唆する所見は雌雄に認めたが、8000ppm群のものより減少または軽減していた。

2000ppm以下の群では、2000ppm群で僅かな摂水量の低値が雌雄に(雄:76～87%、雌:58～93%)、尿蛋白の増加が雌にみられたのみで動物の生存に影響を及ぼすような顕著な変化はみられなかった。

以上の様に、β－クロロプロピオン酸の13週間投与により、重篤な毒性症状はみられなかったが、最高用量の 8000ppm群では体重増加の抑制率が10%程度であったものの、顕著な摂水量の低値がみられ、軽度であるが栄養障害が疑われることから、8000ppmでの２年間の連続投与は困難であると考えられた。4000ppm以下の群では体重増加の抑制は少なく、他の検査結果にも著変を認めなかった。以上のことから、がん原性試験の最高用量は8000ppmと 4000ppmの間であり、8000ppmの10%減の 7200ppmとし、以下中用量、低用量は2400ppm、800ppm(公比 3.0)と設定した。

マウス

＜2週間試験＞

マウスの2週間試験の結果、雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、血液学的検査及び病理組織学的検査には投与群に特徴的な変化はみられなかった。

最高用量の16000ppm群では、雌雄の動物に忌避によると思われる顕著な摂水量の低値(対照群に比較して 雄:48～56%、雌:45～51%)が認められ、それに起因すると思われる所見として、立毛が雄に投与開始後３日目より全投与期間にわたって他の群に比べて多くに認められ、摂餌量の低値が雄に(対照群に比較して 1週7日目にのみ86%)、体重増加の抑制が雌雄に(対照群に比較して試験終了時 雄:92%、雌:93%)みられた。血液生化学的検査で、総コレステロール及びカルシウムの減少が雄にみられたが、その変化の程度は小さく、重篤なものではなかった。

8000ppm群では、摂水量の低値が雌雄に(雄:59～70%、雌:53～67%)、血液生化学的検査で、軽度の総コレステロールの減少が雄にみられた。
4000ppm以下の群では、摂水量の低値が4000ppm群の雌雄に(対照群に対して雄:66～89%、雌:73～84%)みられたのみで、他の検査項目で対照群との間に著変は認めなかった。

以上の様にβ－クロロプロピオン酸の2週間の投与により顕著な毒性症状は観察されなかった。しかし、16000ppm群では雌雄とも対照群に対し50%程度の摂水量しかなかったものの、体重増加の抑制は対照群に比べ10%程度であり、16000ppmは13週間試験の最大耐量であると考えられた。8000ppm以下の群では主に摂水量の低値がみられたのみで重篤な症状はみられなかったことから、13週間試験における投与濃度は、雌雄とも最高用量を 16000ppmとし、以下 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm(公比2.0)と設定した。

＜13週間試験＞

13週間試験の結果、雌雄とも全ての投与群に動物の死亡はみられず、動物の一般状態及び血液学的検査では投与群に特徴的な変化はみられなかった。

高用量の16000ppm群では、雌雄の動物に忌避よると思われる大幅な摂水量の低値(対照群に比較して 雄:42～49%、雌:45～81%)が認められ、それに起因すると思われる摂餌量の低値(対照群に比較して 雄:78～92%、雌:83～

92%)と体重増加の抑制(対照群に比較して試験終了時 雄:74%、雌:94%)が認められた。血液生化学的検査及び尿検査で、雄では軽度の、雌ではより軽度の低栄養状態を示唆する所見が観察された。
また、雌雄ともに解剖時体重の低値に伴って種々の臓器に重量の変化が認められた。病理組織学的検査では、雌の鼻腔の呼吸上皮にエオジン好性変化の発生増加がみられた。

8000ppm群では、摂水量の低値が雌雄に(対照群に比較して 雄:55～70%、雌:61～81%)、摂餌量の低値が雄に(対照群に比較して 88～95%)、体重増加の抑制が雄に(対照群に比較して試験終了時 82%)みられた。血液生化学的検査では雄に、尿検査では雌雄に栄養障害を示唆する所見が認められた。病理組織学的検査では、雌に鼻腔の呼吸上皮にエオジン好性変化の発生増加がみられた。

4000ppm以下の投与群では8000ppm以上の投与群にみられた所見は徐々に減少または軽減したが、雄にのみ体重増加の抑制、摂水量の低値及び低栄養状態を示唆する所見が2000ppmまで認められた。

1000ppm群では、対照群との間に顕著な差を認めなかった。

以上の結果より、雄のがん原性試験の投与濃度は、8000ppm以上では摂水量の低値による体重増加の抑制がみられたことから長期間投与に対して動物は耐えられないと判断した。4000ppmでは、摂水量の低値(対照群に比較して 69～88%)と体重増加の抑制(対照群に比較して 88%)がみられたが、動物の生存に影響を与えるような障害はみられなかったことから、雄のがん原性試験における投与濃度は、最高用量を 4000ppmとし、以下 1000ppm、250ppm(公比 4.0)と設定した。

雌では、最高用量の16000ppmで、大幅な摂水量の低値(対照群に比較して 45～81%)があったが、体重増加の抑制は94%とその程度は少なかったので、16000ppmはがん原性試験の最大耐量であると考えた。

8000ppm以下の群では、8000ppm群で摂水量の低値(対照群に比較して 61～81%)があったのみで、重篤な症状はみられなかったことから、雌のがん原性試験における投与濃度は、最高用量を16000ppmとし、雄との比較も考慮して、以下、中用量、低用量を4000ppm、1000ppm(公比 4.0)と設定した。

V　文献

1.　和光純薬工業からの提供資料（1987）

2.　阿部正信（1986）
長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立
薬理と治療，14，7285-7302.